

ПОШИРЕНІСТЬ АЛЕЛІВ ГЕНА β -КАРОТИНГІДРОКСИЛАЗИ 1 В СУЧАСНОМУ ГЕНОФОНДІ ZEA MAYS L.

Т.М. САТАРОВА *, К.В. ДЕНИСЮК, В.Ю. ЧЕРЧЕЛЬ, Б.В. ДЗЮБЕЦЬКИЙ

Державна установа Інститут зернових культур НААН України,
вул. Володимира Вернадського, 14, Дніпро, 49009, Україна

E-mail: satarova2008@ukr.net *, kvderkach@gmail.com, vlad_cherch@ukr.net, inst_zerna@ukr.net

Каротиноїди, як попередники синтезу вітаміну А, є важливими мікронутрієнтами в харчуванні людини і годівлі тварин. Найбільш ефективно в тваринному організмі на вітамін А перетворюється β -каротин. Підвищення його вмісту в зрілому зерні кукурудзи можливе за рахунок маркер-асоційованого добору задля виявлення генотипів із сприятливим аallelним станом ключових генів біосинтезу каротиноїдів. Важливим для накопичення β -каротину в зерні кукурудзи є ген β -каротингидроксилази 1. Один з алелів цього гена блокує перехід β -каротину в β -криптоксантин і таким чином забезпечує накопичення β -каротину в зрілому зерні. Цей сприятливий алель за маркером crtRB1-3'TE методом полімеразної ланцюгової реакції виявляється як амплікон довжиною у 543 п.н. на відміну від двох інших, 296 п.н. і 296 + 875 п.н., не пов'язаних із підвищенням вмісту β -каротину в зерні повної стиглості. В нашому дослідженні серед 15 загальновідомих ліній кукурудзи закордонної селекції і 153 перспективних у селекційному відношенні ліній Дніпровської селекційної програми сприятливий для накопичення β -каротину алель гена β -каротингидроксилази 1 (543 п.н.) несли відповідно 26,7 і 21,6 % ліній. Алель 543 п.н. гена β -каротингидроксилази 1 за маркером crtRB1-3'TE зустрічався серед більшості проаналізованих підвидів, типів зародкової плазми та груп стиглості кукурудзи, проте відмічено тенденцію до збільшення його частоти у ліній з кременистим типом зернівки, ліній зародкових плазм Ланкастер і Лакон, ранньостиглих і середньоранніх ліній. Лінії сучасного генофонду кукурудзи, ідентифіковані як носії алеля 543 п.н. гена β -каротингидроксилази 1 за маркером crtRB1-3'TE, рекомендовано використовувати в спеціальних програмах маркер-допоміжної селекції на підвищення вмісту β -каротину для окремих підвидів, груп стиглості та типів зародкової плазми.

Ключові слова: кукурудза, каротиногенез, β -каротин, молекулярно-генетичні маркери, лінія, ген crtRB1.

Вступ. Каротиноїди є унікальним компонентом харчування людини і тварин. Каротиної-

ди α -каротин, β -каротин та β -криптоксантин складають так званий провітамін А – єдиний попередник синтезу вітаміну А в тваринному організмі, важливого для діяльності нервової, імунної і репродуктивної систем, для зору, кожных покривів та інших органів (Abraham et al, 2021; Carazo et al, 2021; Kljak et al, 2021; Von Lintig et al, 2022). Каротиноїди лікопін, β -криптоксантин, зеаксантин, лютеїн та інші є цінними мікронутрієнтами у харчуванні людини. На ці речовини існує попит на світовому ринку, що спонукає до розробки біотехнологій їхнього одержання із мікробних та рослинних об'єктів (Zafar et al, 2021). Рекомендована МОЗ України норма споживання каротиноїдів для дорослого населення на добу становить 15 мг, в тому числі β -каротину – 5 мг (<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1206-17#n14>). Особливо важливою проблема нестачі провітаміну А та інших каротиноїдів постає для країн, населення яких притримується монодієти, зокрема харчується переважно зерном кукурудзи. Серед них багато країн Африки та Латинської Америки, певні регіони азійських країн (Goredema-Matongera et al, 2021). Контроль вмісту каротиноїдів в зерні кукурудзи є важливим і для тваринного раціону, оскільки з зерна цієї культури на 70 % складаються комбікорми для годівлі свиней та інших сільськогосподарських тварин і на 80 % – комбікорми для годівлі птиці (Petrychenko, Tomashuk, 2019).

Валовий збір зерна кукурудзи в Україні у 2021 р. досяг 37,5 млн т за урожайності 7,42 т/га (<https://minagro.gov.ua/ua/investoram/monitoring-stanu-apk/eksport-z-ukrayini-zernovih-zernobobovih-ta-boroshna>). З 2019–2020 рр. Україна знаходиться на другому місці в світі за обсягом експорту зернових культур, серед яких кукурудза має частку близько 50 відсотків. Експорт зерна кукурудзи з України у 2020–2021 маркетинговому році становив 23,1 млн т, а експортна

виручка від реалізації зерна — 5,1 млрд доларів США. Основними імпортерами зерна кукурудзи з України є Китай (37 %), Нідерланди (10 %), Єгипет (10 %). Прогноз експорту у 2022 р. з України до основних країн-імпортерів з Африки (Єгипет, Алжир, Туніс, Лівія і Марокко) оцінюється на рівні 7,0–7,2 млн т зерна кукурудзи та 0,9–1,0 млрд доларів США із тенденцією до подальшого зростання (Cheremisina, 2021a, b). Такі перспективи ринку зумовлюють необхідність підвищення вмісту каротиноїдів під час селекції вітчизняних гібридів.

У рослин біосинтез та накопичення каротиноїдів відбувається в пластидах під час метилеритритол-4-фосфатного шляху (MEP-шляху) (Zhai et al, 2016). Роль каротиноїдів в рослинному організмі є суттєвою для фотосинтезу, переходу у стан спокою і полягає, зокрема, в утворенні фотосинтетичних пігментів і деяких гормонів (Rosa, Pérez-Gálvez, 2021). Так, каротиноїди є попередниками синтезу абсцизової кислоти — гормону спокою і контролю метаболічного стану рослин у стресових і нестресових умовах (Ali et al, 2022). Регуляція біосинтезу каротиноїдів, особливо на рівні транскрипції, є важливою складовою під час виконання їхніх функцій в рослинному організмі (Sathasivan et al, 2021). В насінні до 90 % каротиноїдів локалізується в ендоспермі (Sun et al, 2022). Вміст каротиноїдів в рослинах знаходиться під контролем генотипу, зовнішніх факторів та їхньої взаємодії (Graça Dias et al, 2021).

Зерно кукурудзи і його окремі частини інтенсивно вивчаються за складом для використання у харчовій і кормовій галузях як джерело цінних мікронутрієнтів, в тому числі каротиноїдів (Colombo et al, 2021). Максимальний досягнутий рівень вмісту β -каротину в зрілому зерні для генотипів кукурудзи, відселектованих традиційними методами, становить 13,6 мг/кг зерна, хоча у більшості сучасних ліній він низький і варіює від 0,1 до 2,8 мг/кг зерна (Harjes et al, 2008; Satarova et al, 2019). Суттєво зростає вміст β -каротину під час створення нових генотипів кукурудзи в програмах маркер-допоміжної селекції і генетичної інженерії. Методами генетичної інженерії вдалося підвищити вміст β -каротину в зерні до 59,32 мг/кг (Naqvi et al, 2009). Характерним є значне варіювання вмісту суми каротиноїдів, провітаміну А,

окремих каротиноїдів і, зокрема, β -каротину у різних підвидів, місцевих популяцій кукурудзи, а також серед селекційного матеріалу — ліній і гібридів (Hwang et al, 2016; Satarova et al, 2019; Zurak et al, 2021).

Шляхи біосинтезу каротиноїдів в зерні кукурудзи, їхнього метаболізму та утилізації добре відомі (Harjes et al, 2008; Yan et al, 2010 та ін.). Ідентифіковано гени та відповідні ферменти, які контролюють перебіг біохімічних реакцій перетворення основного попередника біосинтезу каротиноїдів — геранілгеранілпірофосфату на першу кольорову речовину — лікопін, а потім на низку речовин α - і β -гілок перетворення лікопіну, зокрема, на β -каротин. Останній є найбільш цінним серед каротиноїдів, оскільки одна молекула β -каротину здатна трансформуватися у тваринному організмі на дві молекули вітаміну А, а решта речовин із А-провітаміною активністю, α -каротин та β -криптоксантин, лише на одну. Генами ключових ферментів, які контролюють накопичення β -каротину у зрілому зерні кукурудзи, є ген лікопін- ϵ -циклази (*lcy ϵ*) і ген β -каротингідроксилази 1 (*crtRB1*). Лікопін- ϵ -циклаза каталізує перетворення лікопіну на α -каротин, а β -каротингідроксилаза 1 — перетворення β -каротину на β -криптоксантин, а також виконує низку інших функцій. Мутації генів цих двох ферментів призводять відповідно до збільшення кількості попередників β -каротину або уповільнюють його розпад.

Молекулярні маркери алельного стану ключових генів біосинтезу каротиноїдів, пов'язані із накопиченням β -каротину в зрілому зерні, відомі із робіт (Babu et al, 2013; Sagare et al, 2019). Для гена лікопін- ϵ -циклази це поліморфні варіанти на ділянках *lcy ϵ -3'INDL*, *lcy ϵ -5'INDL* і *lcy ϵ -SNP216*. Останні дослідження виявили SNP-маркер в першому інtronі гена *lcy ϵ* в позиції 1875, алель С якого був присутній в геномі ліній із вмістом β -каротину у 3–5 разів вищим, ніж у ліній, які несли в цій позиції алель Т (Maazou et al, 2021).

В гені β -каротингідроксилази 1 молекулярними маркерами, алельний стан яких корелює із вмістом β -каротину, є *crtRB1-3'TE*, *crtRB1-5'TE* і *crtRB1-InDel4* (Yan et al, 2010; Muthusamy et al, 2015). Молекулярний маркер *crtRB1-3'TE* охоплює шостий екзон і ділянку

3'UTR. Поліморфізм маркера *crtRB1-3'TE* викликається інсерцією транспозону на 3'-кінці і реалізується у вигляді трьох алелів – фрагментів ДНК певної довжини після ампліфікації із відповідними праймерами. Перший алель за інсерції транспозону у 1250 п.н. реєструється на електрофореграмах як фрагмент довжиною 296 п.н. Другий алель формується за рахунок інсерції транспозону довжиною 325 п.н. і ідентифікується у вигляді ампліконів 296 + 875 п.н. Третій алель, без транспозонової вставки, реєструється у вигляді амплікону довжиною 543 п.н. Позитивна кореляція між станом маркера за відсутності транспозонової вставки та підвищенням вмісту β -каротину в зрілому зерні кукурудзи була показана в роботах багатьох авторів (Yan et al, 2010, Zhang et al, 2012; Muthusamy et al, 2014). Після цього *crtRB1-3'TE* почав розглядатися як маркер, за яким можна проводити добір селекційних форм на генетично обумовлене підвищення вмісту β -каротину, причому серед трьох алелів сприятливим для накопичення β -каротину в зрілому зерні вважається алель 543 п.н. У цукрової кукурудзи рівень експресії гена *crtRB1* за сприятливим алелем 543 п.н. після маркер-асоційованого добору за маркером *crtRB1-3'TE* був знижений у 4,1 раза, а кількість транскриптів негативно корелювала із вмістом β -каротину і провітаміну А (Mehta et al, 2021). Ці дані підтверджують сприятливість саме алеля 543 п.н. для блокування ферментативного перетворення β -каротину у β -криптоксантин і відповідно накопичення β -каротину в зрілому зерні.

В літературі відсутня інформація щодо розповсюдженості алелів генів каротиногенезу, виявлених за допомогою молекулярних маркерів, серед вітчизняних селекційних зразків кукурудзи, а також особливостей їхнього прояву у груп ліній, які використовуються в селекційному процесі, – різних підвидів, типів зародкової плазми, груп стиглості тощо. У зв'язку з цим метою нашого дослідження був аналіз розповсюдженості алелів гена β -каротингідроксилази 1 за маркерним локусом *crtRB1-3'TE* серед ліній кукурудзи зарубіжної і вітчизняної селекції.

Матеріали і методи. Матеріалом для дослідження були 15 загальновідомих ліній кукурудзи (*Zea mays* L.) закордонної селекції та

153 лінії з Дніпровської селекційної програми, представлені Державною установою Інститут зернових культур НААН (ДУ ІЗК НААН), Синецьківською селекційно-дослідною станцією ДУ ІЗК НААН та НВФГ «Компанія «Маїс»», всього 168 ліній. Серед них 46 ліній відносилися до кременистого підвиду кукурудзи, 47 – до кременисто-зубоподібного, 31 лінія – до зубоподібного, 2 лінії – до підвиду цукрової кукурудзи. Досліджено 15 ліній зародкової плазми Ланкастер, 22 – Айодент, 18 – Лакон, 9 – BSSS, 59 – плазми Мікс (приналежність до певного типу зародкової плазми визначалася за педігрі). За групою стиглості серед досліджених ліній 42 відносилися до ранньостиглої (FAO 150–190), 56 – до середньоранньої (FAO 200–290), 7 – до середньостиглої (FAO 300–390) та 5 – до середньопізньої (FAO 400–450) груп. Зерно всіх ліній, використане для аналізу, було отримано шляхом контрольованого інбридингу.

Визначення алельного стану гена β -каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE* проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ДНК кукурудзи ізолювали з 7-добових проростків за методом, описаним (Murray, Thompson, 1980), з використанням СТАВ. Ампліфікації підлягала ділянка ДНК, фланкована праймерами за (Yan et al, 2010), прямим *crtRB1* 65F: ACACCACATGGACAAGT TCG та двома зворотними – *crtRB1* 62R: AC ACTCTGGCCCATGAACAC та *crtRB1* 66R: A CAGCAATACAGGGGACCAG. Суміш для ампліфікації на один зразок ДНК містила: 2 мкл 10 × DreamTaq™ Green Buffer, суміш нуклеотидів – по 200 мкм кожного dNTP, по 0,2 мкм кожного з трьох праймерів, 0,15 мкл розчину полімерази DreamTaq ДНК (Thermo Scientific) з концентрацією 5 U/мкл, 2 мкл розчину ізолюваної ДНК зразка. Загальний об'єм реакційної суміші для одного зразка ДНК складав 20 мкл. ПЛР проводили на ампліфікаторі моделі TC-5000 фірми Techne (США). Режим ампліфікації витримували згідно з (Safawo et al, 2010) за наступних умов: початкова денатурація – за температури 94 °C впродовж 5 хв, потім 40 циклів, які включають в себе такі стадії, як денатурація (за температури 94 °C впродовж 1 хв), відпал праймерів (за температури 60 °C впродовж 1 хв) та елонгація (за

температури 72 °С впродовж 1 хв). Наприкінці ампліфікації фаза охолодження відбувалась за температури 10 °С.

Для розділення продуктів ампліфікації проводили горизонтальний електрофорез в 1%-вому агарозному гелі з етидієм бромідом (0,5 мкг/мг) в трис-боратній буферній системі за напруги 120 V і тривалості 60 хв. Використовували прилад для електрофорезу Sub-cell GT (Bio-Rad). Залучали маркер молекулярної маси фрагментів ДНК Solis BioDyne 100 bp DNA Ladder з кроком 100 п.н. Візуалізацію продуктів ампліфікації після електрофоретичного розділу проводили на приладі GelDoc TMEZ Imager (Bio-Rad).

В ПЛР аналізі для кожної лінії використовували ДНК суміші з 5 проростків із зерен, відібраних за методом середньої проби. ПЛР проводили в дворазовій повторності. Під час аналізу результатів застосовували статистичні методи за (Welham et al, 2014). Цифрові дані в таблицях представлено у вигляді $x \pm SE$, де x – середнє значення показника, SE – стандартна помилка за рівня значущості 0,05.

Результати досліджень. В масиві проаналізованих ліній кукурудзи для гена β-каротингідроксилази 1 за молекулярно-генетичним маркером *crtRB1-3'TE* ідентифіковано такі алелі: 296 п.н., 296 + 875 п.н. та 543 п.н. Серед 15 досліджених нами загальновідомих ліній закордонної селекції – типових представників основних зародкових плазм (табл. 1) розповсюдженість алеля 296 п.н. становила 33,3 %, для 296 + 875 п.н. – 40,0 %, для 543 п.н. – 26,7 %. Тобто, співвідношення несприятли-

вого (296 п.н., 296 + 875 п.н.) і сприятливого (543 п.н.) для накопичення β-каротину алельного стану гена β-каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE* в добірці досліджених закордонних ліній наближено до 3 : 1 ($\chi^2 = 0,0223$, $\chi^2_{0,05} = 3,8$). Присутність сприятливого алеля підтверджено в геномі ліній Oh43 і A619 – представників підплазми Oh43 плазми Ланкастер, у лінії Cm7 плазми Cm7 і лінії F2 плазми Лакон. Несприятливі алелі виявлені у представників 9 поширених типів зародкової плазми.

Розподіл 153 перспективних ліній кукурудзи Дніпровської селекційної програми щодо алельного стану гена β-каротингідроксилази 1, визначеного у ПЛР за маркером *crtRB1-3'TE*, (табл. 2) виглядав так: 296 п.н. – 55 ліній (35,9 %), 296 + 875 п.н. – 65 ліній (42,5 %), 543 п.н. – 33 лінії (21,6 %), тобто 120 ліній з несприятливим і 33 лінії зі сприятливим алельним станом або за співвідношенням 3 : 1 ($\chi^2 = 0,9608$, $\chi^2_{0,05} = 3,8$).

Сумарно за всіма проаналізованими 168 лініями, загальновідомими закордонними та лініями Дніпровської селекційної програми, алель 296 п.н. виявлено у 35,7 % ліній, 296 + 875 п.н. – у 42,3 %, 543 п.н. – у 22,0 % ліній. Лінії з несприятливими (131 шт.) і сприятливим (37 шт.) алелями серед всіх 168 досліджених також знаходилися у співвідношенні, близькому до 3 : 1 ($\chi^2 = 0,7936$, $\chi^2_{0,05} = 3,8$). Отже, сприятливий для накопичення β-каротину алель гена *crtRB1* відзначали майже у 25 % ліній в досліді, а решта мали алельний стан цього гена, за якого утворюється активний фермент

Таблиця 1. Алельний стан гена β-каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE* у загальновідомих ліній кукурудзи закордонної селекції

Лінія	Тип зародкової плазми	Алель, п.н.	Лінія	Тип зародкової плазми	Алель, п.н.
Oh43	Ланкастер (Oh43)	543	Co255	Канадський флінт	296
A619	Ланкастер (Oh43)	543	Mo17	Ланкастер (Mo17)	296 + 875
F2	Лакон	543	F7	Лакон	296 + 875
Cm7	Cm7	543	P165	Айодент	296 + 875
A632	BSSS (B14)	296	A641	BSSS	296 + 875
B73	BSSS (B73)	296	EP1	Лізаргарат	296 + 875
W64A	Рейд	296	A188	A188	296 + 875
P354	Мікс	296	Всього 15 ліній		

β-каротингідроксилаза 1, що в онтогенезі каталізує своєчасне перетворення β-каротину на β-криптоксантин, тобто запобігає накопиченню β-каротину у зрілому зерні.

Розподіл ліній кукурудзи за частотами алелів гена *crtRB1* засвідчив, що у ліній більшості зародкових плазм присутні всі алелі, які виявляються за маркером *crtRB1-3'TE* (табл. 3), причому із частотою 0,67–1,00 переважають несприятливі алелі. Можна відмітити тенденцію до підвищення частоти сприятливого алеля 543 п.н. у ліній зародкових плазм Ланкастер і Лакон. У ліній плазми Мікс, під час створення яких поєднувався генетичний матеріал різних типів зародкової плазми, спостерігалась тенденція до зниження частоти сприятливого алеля. Серед 9 ліній плазми BSSS сприятливий алель за маркером *crtRB1-3'TE* не зустрічався.

Розподіл алелів гена β-каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE* серед ліній куку-

рудзи за підвидами був проведений для 126 ліній, у яких підвид можна було чітко визначити. У кременистого, кременисто-зубоподібного і зубоподібного підвидів спостерігали достовірне перебільшення сумарної частоти несприятливих алелів над частотою сприятливого алеля (рис. 1). Між собою підвиди за частотами досліджуваних алелів достовірно не різнилися, проте для кременистого підвиду відмічено тенденцію до більшого поширення алеля 543 п.н. Лінії цукрового підвиду кукурудзи (ІСКСЕ396, ІСКСЕ401) несли несприятливий алель 296 + 875 п.н.

Розподіл скоростиглих ліній кукурудзи (рис. 2) вказує на достовірно більшу частку ліній із несприятливими алелями 296 п.н. і 296 + 875 п.н., ніж із сприятливим алелем 543 п.н. як в групі ранньостиглих, так і в групі середньоранніх ліній. Достовірної різниці між цими групами за частотою означених алелів

Таблиця 2. Алельний стан гена β-каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE* у ліній кукурудзи Дніпровської селекційної програми*

Алель за маркером <i>crtRB1-3'TE</i> (кількість ліній)	Лінії
296 п.н. (55 ліній)	ВР73-1, ДК2, ДК23, ДК44, ДК232, ДК267/959, ДК272С, ДК272/273МВ, ДК357/273, ДК367, ДК517МВ, ДК673, ДК742, ДК744, ДК7723МСВ, ДК777, ДК951, ДК2442, ДК2732, ДК3008, ДК3023, ДК3060, ДК3070, ДК4173СВЗМ, ДК4445, ДК5170, ДК5510, ДК5534, ДК6356, ДКВ3151, ДКВ3262, ДКК1874зМСВ-3, ДКСПФ-15, ІСК4, ІСК7, ІСК8, ІСК13, ІСК14, ІСК17, ІСК26, ІСК27, ІСК29, ІСК31, ІСК32, ІСК33, ІСК35, ІСК38, ІСК39, ІСК40, ІСК41, ІСК42, МС252ВМ3, МС381МВ, РНТ60
296+875 п.н. (65 ліній)	ДК5, ДК50-7, ДК205/265-5, ДК216, ДК216/237-10, ДК231, ДК233/209, ДК236/680, ДК239, ДК247МВ, ДК247/959МВ, ДК275/777, ДК276, ДК296, ДК301, ДК305, ДК325, ДК365, ДК377, ДК420-1/6080, ДК541, ДК633, ДК680МВ, ДК680/168, ДК814/370, ДК959, ДК2285, ДК2323, ДК2332, ДК2459, ДК2613, ДК2637, ДК2659, ДК2965, ДК3044, ДК3070/44, ДК3527, ДК3902, ДК4538, ДК5510, ДК5568, ДК6080, ДК6335, ДК6381, ДК7408, ДКВ3451, ДКД3, ІСК5, ІСК6, ІСК10, ІСК11, ІСК15, ІСК16, ІСК18, ІСК19, ІСК20, ІСК22, ІСК28, ІСК34, ІСК43, ІСК44, ІСК44, ІСКСЕ396, ІСКСЕ401, МС555
543 п.н. (33 лінії)	ДК129-4, ДК200, ДК204/273, ДК206А, ДК253зСЗМ, ДК253/129-4, ДК267, ДК267/168, ДК273, ДК273/232, ДК315МВ, ДК366, ДК714/195, ДК1855, ДК2073, ДК2275, ДК2668, ДК7064, ДК7337, ДК7575, ДК77174, ДКД9066, ДКЕ-1, ІСК3, ІСК9, ІСК12, ІСК21, ІСК23, ІСК24, ІСК25, ІСК30, ІСК36, ІСК37

* Дніпровська селекційна програма по кукурудзі (виконується головною установою – ДУ ІЗК НААН України, установами-співвиконавцями – Синельниківською селекційно-дослідною станцією ДУ ІЗК НААН, НВФГ «Компанією «Маїс» та ін.). У програмі використовується місцевий селекційний пул, власна колекція вихідного матеріалу, сучасні лінії і гібриди кукурудзи. Позначення ДК використано для ліній, створених в ДУ ІЗК НААН, ІСК – для ліній, створених на Синельниківській селекційно-дослідній станції ДУ ІЗК НААН, МС – для ліній, створених в НВФГ «Компанія «Маїс».

не встановлено. Для 12 проаналізованих середньостиглих і середньопізніх ліній сумарна частота несприятливих алелів становила $0,83 \pm 0,28$, тоді як в групі скоростиглих цей показник знаходиться на рівні $0,78 \pm 0,08$. Таким чином, у ліній всіх груп стиглості більшу поширеність мали несприятливі алелі.

Обговорення. Аналіз розповсюдження алелів ключових генів метаболізму корисних мікронутрієнтів у кукурудзи є важливим для цілеспрямованого добору цінних генотипів з синтетичних популяцій і вихідного селекційного матеріалу. В нашій роботі досліджено лінії кукурудзи сучасного генофонду України, які не піддавалися в селекційному процесі доборам на оптимізований вміст каротиноїдів, а розповсюдження тих чи інших алельних варіантів генів каротиногенезу відбувалося шляхом природних мутацій або як побічний ефект доборів на підвищення врожайності, стійкості до абіотичних і біотичних факторів, певну тривалість вегетаційного періоду та стосовно інших господарських ознак. Доведено, що приблизно три чверті проаналізованих ліній, як зарубіжної, так Дніпровської селекції, містять алелі гена *crtRB1* за маркером *crtRB1-3' TE* , несприятливі для накопичення β -каротину в зрілому зерні через кодування активного ферменту β -каротингідроксилази 1, який розщеплює β -каротин, зменшуючи його кількість в процесі достигання зерна. В той самий час приблизно у чверті сучасних ліній Дніпровської селекційної програми, як і у проаналізованих загальновідомих ліній зарубіжної селекції, в геномі міститься алельний варіант гена β -каротингідроксилази 1, який кодує неактивний фермент, нездатний каталізувати перетворення β -каротину на β -криптоксантин, що забезпечує накопичення β -каротину в зрілому зерні. Таке кількісне співвідношення алелів дозволяє припустити, що алелі 296 п.н. та 296 + 875 п.н. характеризують вихідний стан гена *crtRB1* , а його алель 543 п.н. — є похідною мутантною формою. З іншого боку, алелі 296 п.н. та 296 + 875 п.н. виникли за інсерції транспозонів, а алель 543 п.н. — без транспозонової вставки (Yan et al, 2010; Muthusamy et al, 2015), тому одночасно допустимим є припущення, що саме алель 543 п.н. є анцестральним. Позитивний взаємозв'язок між частотою алеля

543 п.н. і підвищенням вмісту β -каротину підтверджено багатьма дослідниками (Das et al, 2021; Kebede et al, 2021; Menkir et al, 2021).

Зв'язок між розповсюдженням алелів гена β -каротингідроксилази 1 та типом класичної зародкової плазми у кукурудзи раніше спеціально не вивчався. В наших дослідженнях сприятливий для накопичення β -каротину алель, який кодує фермент, неактивний щодо перетворення β -каротину на β -криптоксантин, зустрічався серед переважної кількості досліджених типів зародкової плазми. В деяких типах плазми, наприклад BSSS, нам не вдалося виявити досліджуваний сприятливий алель гена *crtRB1* , можливо через лімітовану кількість досліджених ліній цієї плазми. З іншого боку, плазма BSSS представляє, в основному, середньопізній і пізньостиглий селекційний матеріал (Cherchel et al, 2020). Якщо би у пізньостиглому матеріалі відбувалася затримка переходу

Таблиця 3. Розповсюдження алелів гена β -каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3' TE* серед основних типів зародкової плазми кукурудзи

Тип зародкової плазми	n	Частоти алелів гена <i> crtRB1 </i> за маркером <i> crtRB1-3' TE </i> , частка одиниці		
		алель 296 п.н.	алель 296 + 875 п.н.	алель 543 п.н.
Ланкастер	15	0,14	0,53	0,33
		$0,67 \pm 0,24$		$0,33 \pm 0,24$
Айодент	22	0,32	0,45	0,23
		$0,77 \pm 0,18$		$0,23 \pm 0,18$
Лакон	18	0,39	0,33	0,28
		$0,72 \pm 0,21$		$0,28 \pm 0,21$
BSSS	9	0,44	0,56	0
		1,000		0
Мікс	59	0,43	0,37	0,20
		$0,80 \pm 0,10$		$0,20 \pm 0,10$

Примітка. n — кількість досліджених ліній.

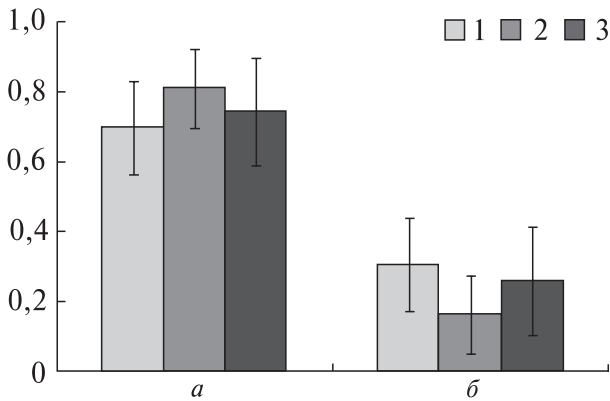


Рис. 1. Частоти алелів гена β -каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE* у ліній кременистого, кременисто-зубоподібного та зубоподібного підви́дів кукурудзи. Вісь ОХ – алелі гена (а – несприятливі 296 п.н., 296 + 875 п.н., б – сприятливий 543 п.н.). Вісь ОУ – частоти алелів, частка одиниці. Ряд 1 – лінії кременистого підвиду (n = 46), ряд 2 – лінії кременисто-зубоподібного підвиду (n = 47), ряд 3 – лінії зубоподібного підвиду (n = 31)

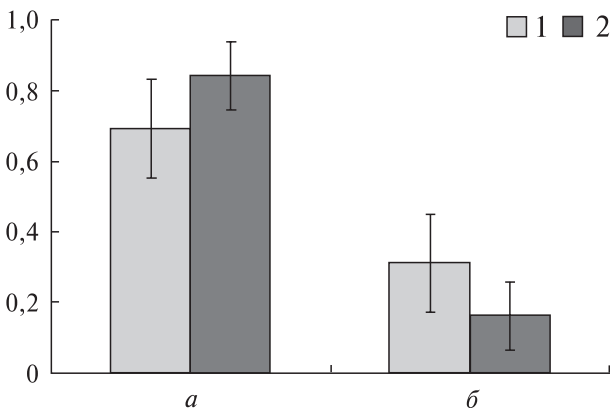


Рис. 2. Частоти алелів гена β -каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE* у скоростиглих ліній кукурудзи. Вісь ОХ – алелі гена (а – несприятливі 296 п.н., 296 + 875 п.н., б – сприятливий 543 п.н.). Вісь ОУ – частоти алелів, частка одиниці. Ряд 1 – лінії ранньостиглі (n = 42), ряд 2 – лінії середньоранні (n = 56)

β -каротину через низку проміжних продуктів у абсцизову кислоту і накопичення її у недостатній кількості, такі генотипи дуже повільно переходили би у стан спокою, зокрема, повільно би втрачали вологу в пізньоосінній період і не встигали би сформувати життєздатне насіння з високою схожістю. На нашу думку, під

час селекції пізньостиглих форм відбувається позасвідомий добір проти алеля 543 п.н. гена β -каротингідроксилази 1 для забезпечення інтенсивного висихання зерна і переходу у стан спокою. Тим самим позасвідомим добром проти алеля 543 п.н. гена β -каротингідроксилази 1 можна пояснити і тенденцію до його зниження у ліній плазми Мікс. Тенденцію до підвищеної частоти сприятливого алеля 543 п.н. продемонстрували лінії плазм Ланкастер та Ланкон, які в переважній більшості відносяться до скоростиглої групи. З огляду на отримані результати важливою стає каталогізація на основі даних молекулярно-генетичного аналізу сучасного вихідного селекційного матеріалу за розповсюдженням алелів цільових генів.

За припущенням E. Saenz et al (2021) профіль каротиноїдів у жовтої і помаранчевої кукурудзи помірного поясу суттєво пов'язаний із твердістю зерна. Так, серед 13 кременистих і 5 зубоподібних комерційних гібридів, які вирощуються в Аргентині, загальний вміст каротиноїдів коливався в межах 11,85–28,68 мг/кг. Кременисті гібриди мали більший вміст каротиноїдів β -гілки, а зубоподібні – α -гілки. В цілому вміст провітаміну А у кременистих генотипів був у двічі більший, ніж у зубоподібних. В нашому дослідженні порівняння підви́дів кукурудзи показало певну тенденцію для кременистого підви́ду до більшого поширення сприятливого алеля 543 п.н., хоча серед кременисто-зубоподібної та зубоподібної кукурудзи цей алель також зустрічався. Досліджені нами дві лінії цукрової підви́ду кукурудзи несли несприятливий алель 296 + 875 п.н. Згідно з результатами досліджень M. Vaseggio et al (2020) лише 5 % проаналізованих ліній із мутацією *sh2* з селекційної програми цукрової кукурудзи помірної зони США несли сприятливі алелі генів *crtRB1* та *lcyε*. Проте існує світовий досвід, який показує, що програми із селекції цукрової кукурудзи на підвищення цукристості, врожайності качанів, вмісту лізину і триптофану у фазу технічної стиглості можуть успішно поєднуватися із селекцією на підвищення вмісту β -каротину (Mehta et al, 2020; Braveja et al, 2022; Chauhan et al, 2022). Дослідження кореляції між вмістом каротиноїдів та інших цінних мікронутрієнтів в зерні повної стиглості засвідчило, що восковидна кукурудза міс-

тила найбільшу кількість токохроманолів і найменшу — каротиноїдів, а високолізінова кукурудза — навпаки, найбільше каротиноїдів і найменше токохроманолів. Загальний вміст каротиноїдів в зерні негативно корелював із загальним вмістом токохроманолів (Sun et al, 2022).

З'ясування алельного стану перелічених молекулярних маркерів в місцевих популяціях і в селекційних зразках кукурудзи дозволяє проводити серед них маркер-допоміжний відбір сприятливих алельних варіантів ключових генів каротиногенезу. Такий відбір не залежить від екологічних факторів і є досить дешевим порівняно із безпосереднім визначенням вмісту β -каротину, коли аналіз одного зразка методом високороздільної рідинної хроматографії (HPLC) коштує близько 100 доларів США (Maazou et al, 2021). Аналіз алельного стану гена *crtRB1* за маркером *crtRB1-3'TE* у 26 місцевих популяцій кукурудзи із північно-східних Гімалаїв в Індії показав, що всі вони були або гомозиготними за несприятливими алелями, або гетерозиготними, але популяцій, гомозиготних за сприятливим алелем, виявлено не було (Natesan et al, 2020). Ідентифікація сприятливих алелів ключових генів біосинтезу каротиноїдів у вихідному матеріалі дозволила успішно проводити маркер-допоміжну селекцію на підвищений вміст каротиноїдів, зокрема, β -каротину в зрілому зерні кукурудзи в селекційних програмах різних країн (Zatyshniak et al, 2020; Duo et al, 2021; Menkir et al, 2021 та ін.). Ідентифіковані в Дніпровській селекційній програмі 33 лінії — носії сприятливого алеля гена β -каротингідроксилази 1 представляють три підвиди, три групи стиглості і чотири типи зародкової плазми, найбільш задіяні в селекційному процесі в Україні. Їх рекомендовано покласти в основу спеціальних селекційних програм поліпшення зерна кукурудзи за вмістом β -каротину, які проводяться в межах окремих підвидів, типів зародкової плазми та груп стиглості.

В роботі M. Qutub et al (2021) доведено підвищення вмісту β -каротину до 7,5–8,7 мг/кг за рахунок маркер-допоміжної селекції за сприятливим алельним станом гена *crtRB1* та SSR-маркерами в поколіннях BC_1F_1 , BC_2F_1 і BC_2F_2 із відповідністю рекурентній формі за агро-

номічними ознаками на 78,83–99,44 %. Індійські субтропічні експериментальні гібриди, отримані в результаті селекції на сприятливий алельний стан гена *crtRB1*, були на рівні класичних гібридів за врожайністю, але містили в середньому 8,6 мг/кг β -каротину і 10,63 мг/кг провітаміну А проти відповідно 1,73 і 2,37 мг/кг у звичайних гібридів. Тобто, вміст каротиноїдів не був асоційований із врожайністю (Goswami et al, 2019). Цілеспрямований добір за сприятливими алелями генів каротиногенезу в програмах створення висококаротиноїдної кукурудзи і надалі необхідно поєднувати із дослідженнями кореляції з іншими господарсько цінними ознаками, перш за все урожайністю, тривалістю вегетаційного періоду, стресостійкістю до факторів середовища.

Висновки. Алель гена β -каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE*, сприятливий для накопичення β -каротину в зрілому зерні кукурудзи, зустрічається у близько 25 % сучасних перспективних ліній як вітчизняної, так і закордонної селекції. Цей алель ідентифікований серед переважної кількості підвидів, зародкових плазм і груп стиглості. Разом з тим, відмічено тенденцію до збільшення частоти алеля гена β -каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE*, сприятливого для накопичення β -каротину в зрілому зерні, у ліній з кремезним типом зернівки, ліній зародкових плазм Ланкастер і Лакон, ранньостиглих і середньоранніх ліній. Лінії сучасного генофонду кукурудзи, ідентифіковані як носії алеля 543 п.н. гена β -каротингідроксилази 1 за маркером *crtRB1-3'TE*, рекомендовано використовувати в програмах маркер-допоміжної селекції з підвищення вмісту β -каротину в зрілому зерні.

Автори висловлюють подяку Ю.О. Гончарову, К.В. Веселянській та О.В. Затишняк за технічну допомогу у проведенні лабораторних досліджень.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень з використанням людей і тварин як об'єктів.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Роботу виконано за ПНД 14 «Біотехнологічні та молекулярно-генетичні методи поліпшення кількісних і якісних ознак рослин» за завданням 14.00.01.02.Ф «Фундамен-

тальні основи біотехнологічного забезпечення селекційного процесу у кукурудзи на основі використання функціональних молекулярно-генетичних маркерів», № держреєстрації 0121U107829, та за ПНД 15 «Агробіологічні системи виробництва зерна в Україні. Селекція і насінництво кукурудзи і сорго» за завданням 15.01.00.01Ф «Теоретичні основи підвищення врожайності скоростиглих гібридів кукурудзи ФАО 150–290, адаптованих до умов різних кліматичних зон України», № держреєстрації 0121U108630, за фінансування Національної академії аграрних наук України.

DISTRIBUTION OF ALLELES OF β -CAROTENE HYDROXYLASE 1 GENE IN MODERN GENOTYPES OF *ZEA MAYS* L.

T.M. Satarova, K.V. Denysiuk, V.Yu. Cherchel, B.V. Dziubetskyi

State Enterprise the Institute of Grain Crops of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine Volodimir Vernadskij st., 14, Dnipro, 49009, Ukraine
E-mail: satarova2008@ukr.net*, kvderkach@gmail.com, vlad_cherch@ukr.net, yliya.311285@gmail.com

Carotenoids as precursors for the vitamin A synthesis are important micronutrients for food and feed. β -Carotene is a carotenoid which converts into vitamin A in animal organisms most effectively. The increase in its content in mature maize grain is possible via marker-associated selection by the identification of genotypes with favorable allelic state of the key genes of carotenoid biosynthesis and utilization. The gene of β -carotene hydroxylase 1 is important for the accumulation of β -carotene in mature maize grain. One of its alleles blocks the transition of β -carotene into β -cryptoxanthin and thus ensures the accumulation of β -carotene in mature grain. This allele is detected by the marker *crtRB1-3' TE* using the polymerase chain reaction as an amplicon of 543 bp unlike two others, 296 bp and 296 + 875 bp, which are not associated with an increase in β -carotene content in the grain of complete maturity. It was established that 26.7 % among 15 well-known inbreds of foreign breeding and 21.6 % of inbreds within 153 perspective inbreds of the Dnipro breeding program carried the allele of β -carotene hydroxylase 1 gene (543 bp) favorable for the accumulation of β -carotene. Allele 543 bp of β -carotene hydroxylase 1 gene by the marker *crtRB1-3' TE* was found among most of the analyzed maize subspecies, germplasms, and maturity groups. The tendency to its increased frequency for inbreds with flint grain type, Lancaster and Lacon germplasms as well as early and middle early inbreds was

noticed. Modern perspective inbreds – the carriers of allele 543 bp on gene of β -carotene hydroxylase 1 by marker *crtRB1-3' TE*, are recommended for the application in special programs of marker-assisted selection to increase the content of β -carotene in maize subspecies, groups of maturity, and different types of germplasm.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Abraham ME, Weimer SL, Scoles K et al (2021) Orange corn diets associated with lower severity of footpad dermatitis in broilers. *Poult Sci* <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101054>.
- Ali F, Qanmber G, Li F et al (2022) Updated role of ABA in seed maturation, dormancy, and germination. *J Adv Res.* <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.03.011>.
- Babu R, Rojas N P, Gao S et al (2013) Validation of the effects of molecular marker polymorphisms in *LcyE* and *CrtRB1* on provitamin A concentrations for 26 tropical maize populations. *Theor Appl Genet* <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1987-3>.
- Baseggio M, Murray M, Magallanes-Lundback M et al (2020) Natural variation for carotenoids in fresh kernels is controlled by uncommon variants in sweet corn. *The Plant Genome* 2020 <https://doi.org/10.1002/tpg2.20008>.
- Baveja A, Muthusamy V, Panda KK et al (2021) Development of multimineral-rich biofortified sweet corn hybrids through genomics-assisted selection of *shrunken2*, *opaque2*, *lcyE* and *crtRB1* genes. *J Appl Genet* <https://doi.org/10.1007/s13353-021-00633-4>.
- Carazo A, Macáková K, Matoušová K et al (2021) Vitamin A update: forms, sources, kinetics, detection, function, deficiency, therapeutic use and toxicity. *Nutrients* <https://doi.org/10.3390/nu13051703>.
- Chauhan HS, Chhabra R, Rashmi T et al (2022) Impact of *vte4* and *crtRB1* genes on composition of vitamin-E and provitamin-A carotenoids during kernel-stages in sweet corn. *J Food Compos Analysis* <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104264>.
- Cherchel VYu, Dziubetskyi BV, Satarova TM et al (2020) Initial material of Lancaster germplasm in maize selection and biotechnology [in Ukrainian]. *Kyiv. Agrarna nauka*. P. 20–43. <https://doi.org/10.31073/978-966-540-500-9>.
- Cheremisina SH (2021a) Grain market in Ukraine: analysis of the current state and development prospects [In Ukrainian]. *Ekonomika APK.* <https://doi.org/10.32317/2221-1055.202102048>.
- Cheremisina SH (2021b) Status and prospects of development of grain exports from Ukraine to African countries [in Ukrainian]. *Ekonomika APK.* <https://doi.org/10.32317/2221-1055.202103033>.
- Colombo R, Ferron L, Papetti A (2021) Colored

- Corn: An up-date on metabolites extraction, health implication, and potential use. *Molecules* <https://doi.org/10.3390/molecules26010199>.
- Das AK, Gowda MM, Muthusamy V et al (2021) Development of maize hybrids with enhanced vitamin-e, vitamin-a, lysine, and tryptophan through molecular breeding. *Front Plant Sci* <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.659381>.
- Duo H, Hossain F, Muthusamy V et al (2021) Development of sub-tropically adapted diverse provitamin-A rich maize inbreds through marker-assisted pedigree selection, their characterization and utilization in hybrid breeding. *PLoS One* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245497>.
- Goredema-Matongera N, Ndhlela T, Magorokosho C et al (2021) Multinutrient biofortification of maize (*Zea mays L.*) in Africa: current status, opportunities and limitations. *Nutrients* <https://doi.org/10.3390/nu13031039>.
- Goswami R, Zunjare RU, Khan S et al (2019) Genetic variability of kernel provitamin-A in sub-tropically adapted maize hybrids possessing rare allele of β -carotene hydroxylase. *Cereal Res Commun* <https://doi.org/10.1556/0806.47.2019.12>.
- Graça Dias M, Borge GIA, Kljak K et al (2021) European database of carotenoid levels in foods. Factors affecting carotenoid content. *Foods* <https://doi.org/10.3390/foods10050912>.
- Harjes CE, Rocheford TR, Bai L et al (2008) Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science* <https://doi.org/10.1126/science.1150255>.
- Hwang T, Ndolo VU, Katundu M et al (2016) Provitamin A potential of landrace orange maize variety (*Zea mays L.*) grown in different geographical locations of central Malawi. *Food Chem* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.067>.
- Kebede D, Mengesha W, Menkir A et al (2021) Marker based enrichment of provitamin A content in two tropical maize synthetics. *Sci Rep* <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94586-7>.
- Kljak K, Duvnjak M, Bedeković D et al (2021) Commercial corn hybrids as a single source of dietary carotenoids: effect on egg yolk carotenoid profile and pigmentation. *Sustainability*. <https://doi.org/10.3390/su132112287>.
- Maazou A-RS, Gedil M, Adetimirin VO et al (2021) Comparative assessment of effectiveness of alternative genotyping assays for characterizing carotenoids accumulation in tropical maize inbred lines. *Agronomy* <https://doi.org/10.3390/agronomy11102022>.
- Mehta BK, Chhabra R, Muthusamy V et al (2021) Expression analysis of β -carotene hydroxylase1 and *opaque2* genes governing accumulation of provitamin-A, lysine and tryptophan during kernel development in biofortified sweet corn. *3 Biotech* <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02837-1>.
- Mehta BK, Muthusamy V, Zunjare RU et al (2020) Biofortification of sweet corn hybrids for provitamin-A, lysine and tryptophan using molecular breeding. *J Cereal Sci* <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103093>.
- Menkir A, Dieng I, Mengesha W et al (2021) Unraveling the effect of provitamin a enrichment on agronomic performance of tropical maize hybrids. *Plants (Basel)*. <https://doi.org/10.3390/plants10081580>.
- Mladenović-Drinić S, Vukadinović J, Srdić J et al (2021) Effect of cooking on the content of carotenoids and tocopherols in sweet corn. *Food and Feed Res* <https://doi.org/10.5937/ffr0-31960>.
- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl Acids Res* 8:4321–4325.
- Muthusamy V, Hossain F, Thirunavukkarasu N et al (2015) Allelic variations for *lycopene- ϵ -cyclase* and *β -carotene hydroxylase* genes in maize inbreds and their utilization in β -carotene enrichment programme. *Cogent Food Agric* <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1033141>.
- Naqvi Sh, Zhu Ch, Farre G et al (2009) Transgenic multivitamin corn through biofortification of endosperm with three vitamins representing three distinct metabolic pathways. *PNAS* <https://doi.org/10.1073/pnas.0901412106>.
- Natesan S, Singh TS, Duraisamy T et al (2020) Characterization of *crtRB1* gene polymorphism and β -carotene content in maize landraces originated from north eastern himalayan region (NEHR) of India. *Front Sustain Food System* <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00078>.
- Petrychenko VF, Tomashuk OV (2019) Features of formation of indicators of quality of corn grain at various technologies of cultivation in the Forest-steppe of the Right bank [in Ukrainian]. *Plant Soil Sci* <https://doi.org/10.31548/agr2019.02.029>.
- Qutub M, Chandran S, Rathinavel K et al (2021) Improvement of a yairipok chujak maize landrace from north eastern himalayan region for β -carotene content through molecular marker-assisted backcross breeding. *Genes* <https://doi.org/10.3390/genes12050762>.
- Roca M, Pérez-Gálvez A (2021) Metabolomics of chlorophylls and carotenoids: analytical methods and metabolome-based studies. *Antioxidants (Basel)*. <https://doi.org/10.3390/antiox10101622>.
- Saenz E, Borrás L, Gerde JA (2021) Carotenoid profiles in maize genotypes with contrasting kernel hardness. *J Cereal Sci* <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103206>.

- Sagare D, Shetti P, Surender M et al (2019) Marker-assisted backcross breeding for enhancing β -carotene of QPM inbreds. *Mol Breed* <https://doi.org/10.1007/s11032-019-0939-x>.
- Satarova TM, Semenova VV, Zhang J et al (2019) Differentiation of maize breeding samples by β -carotene content. *Regulat Mechan Biosystem* <https://doi.org/10.15421/021910>.
- Sathasivam R, Radhakrishnan R, Kim J K et al (2021) An update on biosynthesis and regulation of carotenoids in plants. *South Afric J Bot* <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.05.015>.
- Sun X, Ma L, Lux PE et al (2022) The distribution of phosphorus, carotenoids and tocochromanols in grains of four Chinese maize (*Zea mays* L.) varieties. *Food Chemistry* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130725>.
- Von Lintig J, Moon J, Babino D (2020) Molecular components affecting ocular carotenoid and retinoid homeostasis. *Prog Retin Eye Res* <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100864>.
- Welham SJ, Gezan SA, Clark SJ et al (2014) *Statistical methods in biology: design and analysis of experiments and regression*. CRC Press., Boca Raton Fl. 602 p. ISBN-13:978-1439808788.
- Yan J, Kandianis CB, Harjes CE et al (2010) Rare genetic variation at *Zea mays crtRB1* increases beta-carotene in maize grain. *NatGenet*. 2010. <https://doi.org/10.1038/ng.551>.
- Zafar J, Aqeel A, Shah FI et al (2021) Biochemical and immunological implications of lutein and zeaxanthin. *Int J Mol Sci* <https://doi.org/10.3390/ijms222010910>.
- Zatyshniak OV, Cherchel VYu, Dziubetskyi BV et al (2020) Marker-assisted selection for the gene of β -carotene hydroxylase in maize. *Factor Experim Evolut Organism* <https://doi.org/10.7124/FEEO.v27.1307>.
- Zhai SN, Xia XC, He LH (2016) Carotenoids in staple cereals: metabolism, regulation and genetic manipulation. *Front Plant Sci* <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01197>.
- Zurak D, Grbeša D, Duvnjak M et al (2021) Carotenoid content and bioaccessibility in commercial maize hybrids. *Agriculture*. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070586>.

Надійшла в редакцію 28.02.22
Після доопрацювання 01.08.22
Прийнята до друку 18.01.23